

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA FARMACEUTICKÉ TECHNOLOGIE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Osmolalita parenterálních přípravků. Elektrolyty 2.
Osmolality of parenteral preparations. Electrolytes 2.

Prohlašuji, že tato diplomová práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

Na tomto místě bych chtěla poděkovat PharmDr. Zdeňce Šklubalové, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost a pomoc při vypracování mé diplomové práce.

Obsah

1. Úvod a pracovní úkoly diplomové práce	6
2. Používané symboly	8
3. Teoretická část	9
3.1. Obaly pro parenterální přípravky	9
3.2. Úprava vlastností parenterálních přípravků	10
3.2.1. Tlumivé roztoky	10
3.2.2. Antioxidanty	11
3.2.3. Protimikrobní látky.....	11
3.2.4. Osmotický tlak	12
3.2.4.1. Biologické aspekty osmotického tlaku	12
3.2.4.2. Osmóza a osmotický tlak	13
3.2.5. Koligativní vlastnosti	14
3.2.5.1. Kryoskopie	14
3.2.6. Osmotická koncentrace	15
3.2.6.1. Osmolalita	15
3.2.6.2. Osmolarita	16
3.2.7. Určení osmolarity	17
3.3. Studované roztoky elektrolytů.....	18
3.3.1. Octan sodný trihydrát	18
3.3.2. Hydrogenuhličitan sodný	18
3.3.3. Chlorid amonný	19
3.3.4. Mléčnan sodný	19
4. Experimentální část	20
4.1. Použité suroviny	20
4.2. Použité přístroje.....	20
4.3. Příprava roztoků	21
4.4. Ztráta sušením	21
4.5. Rovnovážná vlhkost	22

4.6. Pyknometrické stanovení hustoty.....	22
4.7. Měření osmolality.....	24
4.8. Odhad osmolarity	24
4.9. Určení molálního osmotického koeficientu	25
5. Výsledky	26
6. Diskuse.....	40
7. Závěry	45
8. Souhrn	46
9. Summary	47
10. Použitá literatura.....	48

1. Úvod a pracovní úkoly diplomové práce

Parenterální přípravky jsou přípravky, které jsou do lidského či zvířecího těla dodávány mimo trávicí trakt. Jedná se o sterilní přípravky určené k podání do těla injekcí, infuzí nebo implantací. Jsou aplikovány přímo do cévního systému, tkání nebo orgánů. Tyto aplikační cesty zajišťují rychlý nástup účinku léku. Hlavní tři způsoby aplikace parenterálií jsou intravenózní, intramuskulární a subkutánní.

Parenterální způsob podání je obvykle používán u léčivých přípravků, které nemohou být podány perorálně z důvodu: nestability léku, pacientovy nesnášenlivosti, terapeutické neúčinnosti nebo špatné absorpce léčiva poddaného perorální cestou. Parenterální přípravky jsou používány pro jejich rychlý nástup účinku, když nemůže být použit perorální způsob aplikace, pro podání léku pacientům ve vážných stavech či v bezvědomí a pro rychlou úpravu vnitřního prostředí.

Parenterální přípravky mohou být roztoky, suspenze nebo emulze ve vhodném vodném nebo nevodném rozpouštědle.¹ Jako vodné rozpouštědlo se nejčastěji používá voda pro injekce a z méně často používaných nevodných rozpouštědel glycerol nebo propylenglykol.²

Injekční přípravky jsou distribuovány do objemu 100 ml², a proto jsou označovány jako maloobjemové přípravky. Mohou se vyskytovat jako jedno- či vícedávkové přípravky. Infuze jsou označovány jako velkoobjemové přípravky. Jsou obvykle dodávány v objemech od 100 ml do 1000 ml, často se setkáváme s tím, že objem infuzního přípravku tuto hranici překračuje.³ Infuzní přípravky většinou neobsahují léčivou látku. Jsou to vodné roztoky nebo emulze obsahující např. sacharidy, aminokyseliny, tuky, elektrolyty nebo vitamíny.³ Využívají se jako např. parenterální výživa, pro úpravu objemu nebo složení tělesných tekutin nebo jako nosné roztoky pro léčivé látky obsažené v infuzním přípravku.²

Pracovní úkoly

V teoretické části zpracovat literární přehled formulačních faktorů uplatňujících se při přípravě (výrobě) parenterálních přípravků se zaměřením na osmotický tlak a osmotickou koncentraci.

Experimentálně zjistit hustotu roztoků vybraných parenterálních látek: octanu sodného, hydrogenuhličitanu sodného, chloridu amonného a mléčnanu sodného v odstupňované molalitě 0,1-1,0 mol/kg. Vyjádřit závislost mezi molalitou roztoků a jejich molaritou.

Změřit osmolalitu uvedených roztoků pomocí osmometru a zjištěné hodnoty použít k odhadu průměrného molálního osmotického koeficientu látek. Zhodnotit použitelnost průměrného molálního osmotického koeficientu pro odhad osmolality podle platných lékopisů. S využitím lékopisných postupů odhadnout osmolaritu roztoků a použité postupy vzájemně porovnat.

2. Používané symboly

Tabulka 1: Používané symboly

symbol	význam symbolu	jednotky
c	molarita	mol/l
c_{osmol}	osmolarita	mOsmol/l
m	molalita	mol/kg
m_{osmol}	osmolalita	mOsmol/kg
h	skutečná hustota roztoku	kg/l
h_{rel}	relativní hustota roztoku	kg/l
h_v	hustota vody	kg/l
i	van 't Hoffův koeficient	—
M_w	molární hmotnost	g/mol
M	hmotnost roztoku	g
n	počet iontů	—
r	koeficient korelace	—
R	univerzální plynová konstanta	$\text{J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$
T	termodynamická teplota	K
V	objem roztoku	l
V_v	objem vody	l
V_g	parciální měrný objem látky	ml/g
α	stupeň disociace	—
π	osmotický tlak	Pa

3. Teoretická část

Vzhledem k tomu, že parenterální přípravky jsou podávány přímo do těla, platí pro ně přísná kritéria týkající se obsahu léčiv, čirosti, pH, apyrogenity, osmotického tlaku, sterility.

3.1. *Obaly pro parenterální přípravky*

Parenterální přípravky jsou dodávány ve skleněných či plastických obalech a v předem naplněných injekčních stříkačkách. Tyto obaly jsou, pokud možno, dostatečně transparentní, aby byla možná vizuální kontrola obsahu. Veškerý používaný obalový materiál nesmí nijak reagovat s jakoukoliv složkou parenterálního přípravku a tím pádem ovlivňovat jeho složení.

Rozlišujeme obaly pro injekční a infuzní přípravky. U prvně zmiňovaných záleží také na skutečnosti, jedná-li se o jedno- či vícedávkový přípravek. Jednodávkové injekční přípravky jsou převážně plněny do tenkostěnných skleněných ampulek. Ty mají zúžené hrdlo, které se dá lehce ulomit či uříznout a přípravek může být naplněn do injekční stříkačky a aplikován. Hrozí ovšem riziko kontaminace přípravku částičky skla při otvírání, proto se na to musí dávat velký pozor. Méně využívané je plnění do vialek, které mají uzávěr, který musí být těsný, zabraňovat sekundární kontaminaci a dovolovat odebrání obsahu bez jeho odstranění. Uzávěry tvoří plastické materiály nebo elastomery, jsou dostatečně pevné a pružné, aby dovolily průnik jehly s co nejmenším odlučováním částic.⁴ Naopak vícedávkové přípravky jsou plněny převážně do tlustostěnných skleněných vialek s dostatečně pružným uzávěrem, který musí zajistit uzavření vpichu po vytažení jehly. Na rozdíl od jednodávkových přípravků musí ovšem obsahovat protimikrobní přísadu, která zabraňuje sekundární kontaminaci a zajišťuje opakované použití přípravku.

Infuzní přípravky jsou plněny do plastových vaků nebo dnes již méně používaných infuzních lahví. Nejpoužívanější materiál pro výrobu infuzních plastových vaků je polyvinylchlorid.¹ Jejich výhodou je, že jsou lehčí než skleněné infuzní lahve a je s nimi lehčí a snadnější manipulace. Plastové vaky

jsou buď jedno- nebo vícekomorové, kde dochází ke smísení jednotlivých komponent bezprostředně před samotnou aplikací, což je velká výhoda u hůře mísitelných roztoků a prodlužuje to dobu použitelnosti infuzního přípravku.

3.2. Úprava vlastností parenterálních přípravků

K úpravě vlastností parenterálních přípravků se používá řada pomocných látek.

3.2.1. Tlumivé roztoky

Ideální pH parenterálních přípravků je 7,4, které odpovídá pH lidské krve.¹ Pokud je hodnota pH větší než 9, může se vyskytnout nekróza tkáně, pokud je hodnota pH menší než 3 může se objevit bolest až zánět v místě aplikace.² I přes to je akceptovatelné rozpětí pH u parenterálních přípravků aplikovaných intravenózně mezi hodnotami 3 – 10,5. Je to větší rozmezí než u ostatních parenterálií aplikovaných přímo do tkáně, kde se požadovaná hodnota pH pohybuje v rozmezí 4 – 9. Větší rozpětí pH u intravenózních přípravků vyplývá z aplikace přímo do krve, která sama působí jako tlumivý roztok.

Kromě fyziologického významu hodnota pH může ovlivnit také rozpustnost a stabilitu léčivé látky. Většina léčivých látek aplikovaných parenterální cestou je používána ve formě solí organických kyselin a zásad, protože tyto soli jsou většinou dobře rozpustné ve vodě. Tyto soli mají také ve vysokých koncentracích vlastnosti tlumivých roztoků.¹

Hodnota pH přípravku se může změnit např. sterilizací teplem, reakcí přípravku s obalovým materiálem či změnami struktury léčivé látky. Aby se předešlo změnám hodnoty pH přípravku přidávají se k nim tlumivé roztoky, které mají schopnost udržet v jistém rozmezí hodnotu pH. Nejčastěji používané tlumivé roztoky pro parenterální přípravky jsou pufrý octanový, fosforečnanový, glutamanový a citronanový.¹

Infuzní roztoky obsahující např. chlorid amonný nebo hydrogenuhličitan sodný se používají na úpravu acidobazické rovnováhy. Mají schopnost ovlivňovat hodnotu pH vnitřního prostředí bezprostředně po aplikaci do cévního systému.

3.2.2. Antioxidanty

Mnoho léčiv je náchylných k oxidaci, tyto léčiva jsou používána i v parenterálních přípravcích, proto jsou k nim přidávány antioxidanty. Jedná se o látky, které jsou náchylnější k oxidaci než látka samotná. Množství antioxidantu v přípravku se může měnit vlivem skladování či při sterilizačním procesu. Při výběru antioxidantu je důležité brát v úvahu jeho toxicitu, proto je obsah určité antioxidační látky limitován. Pro některé lékové formy je ovšem obsah antioxidantu nepřijatelný, jako jsou např. intralumbální injekce. V takovém případě se množství látek způsobujících oxidaci snižuje na minimum, nejčastěji je při výrobě použito inertního prostředí jako třeba dusíku nebo oxidu uhličitého.

Náchylnost látky k oxidaci klesá a stoupá společně s pH, proto je mnoho roztoků používáno s co nejmenší možnou hodnotou pH. Jako nejvýhodnější a nejefektivnější antioxidanty jsou používány soli metadišičitanu při nízkém pH, soli hydrogensířičitanu při střední hodnotě pH a soli sířičitanu při vysokém pH.¹ Jako pomocné antioxidanty jsou hojně využívány chelatační látky, nejčastěji edetan disodný. Mimo ně se můžeme setkat i s používáním kyseliny fosforečné, vinné nebo citrónové, které snižují pH roztoku. Povidon, glycerol, lecitin a propylenglykol¹ se přidávají pro zvýšení viskozity, čímž snižují riziko oxidace. Jako pomocné antioxidanty se využívají i povrchově aktivní látky, jako jsou polysorbáty nebo třeba některé aminokyseliny např. glycin, cystein nebo tryptofan.¹

U infuzních přípravků se antioxidanty používají hlavně u emulzí, kde jsou obsaženy nenasycené mastné kyseliny, přítomné v olejích, které snadno podléhají oxidaci. S hojným využitím antioxidantů se setkáváme i u roztoků aminokyselin.

3.2.3. Protimikrobní látky

Více dávkové parenterální přípravky obsahují mimo jiné protimikrobní přísadu, která zajišťuje ochranu přípravku před případnou sekundární kontaminací

mikroorganismy. Jedná se o stabilní a vysoce účinné látky, které by neměly reagovat s nějakou součástí přípravku, tím se jejich aktivita výrazně snižuje. Je známo, že například gumové uzávěry vícedávkových přípravků mají poměrně velkou schopnost adsorpce protimikrobních látek a tím snižují jejich obsah v samotném přípravku.

Množství protimikrobní látky je limitováno z důvodu možné toxicity. Samotná aktivita látky je pečlivě zkoumána mnoha testy, kdy do přípravku jsou přidávány různé mikroorganismy a pak je stanovován jejich obsah a tím určena aktivita protimikrobní látky. Účinnost některých protimikrobních látek je také ovlivněna hodnotou pH, protože některé látky jsou nejúčinnější v neionizované formě, jako např. kyselina benzoová.¹ Jiné jsou naopak aktivní v ionizované formě. Nejvíce využívané protimikrobní látky v parenterálních přípravcích jsou fenol, chlorbutanol či benzylalkohol, případně benzalkonium-chlorid.⁵

Protimikrobní přísady nejsou přípustné v jednodávkových parenterálních přípravcích, u přípravků kde je vysoká jednotlivá dávka (více jak 15 ml) a u některých zvláštních způsobů aplikace např. nitrooční nebo intralumbální injekce.⁴

Infuzní přípravky nesmějí obsahovat protimikrobní přísadu. Pomocí infuze je do těla aplikován větší objem roztoku, pokud by obsahoval protimikrobní přísadu, její množství by překračovalo povolený obsah dané přísady. Sterilita infuzních přípravků je zajištěna sterilizací teplem při výrobním procesu.

3.2.4. Osmotický tlak

3.2.4.1. Biologické aspekty osmotického tlaku

Osmotický tlak hraje velkou roli v biologických procesech, které zahrnují transport tekutin přes membránu. Pokud má roztok stejný osmotický tlak, jako mají erythrocyty, znamená to, že je izotonický s lidskou krví. Tomuto požadavku odpovídá 0,9 % roztok NaCl.⁶ Aplikace izotonického roztoku je pro pacienta bezbolestná, ale v případě že je aplikován ve velkém množství a

rychle, může se objevit celá řada komplikací na základě rychlého zvýšení objemu extracelulární tekutiny.

V případě, že je osmotický tlak vyšší mluvíme o hypertonickém roztoku, jeho aplikace do cévního systému vyvolává scvrkávání krvinek. Tento jev se nazývá hemoptýza. Rychlá aplikace hypertonického roztoku může vést k vážným komplikacím např. oběhovému selhání. Pokud je podání hypertonického roztoku nezbytné, musí se aplikovat pomalu a v malých množstvích, nebo do velkých žil např. subklaviální žíly, tak aby existovala možnost rychlého zředění a distribuce v cévním systému.^{6,7,8} Stupeň poškození závisí převážně na velikosti odchylky od izotonického roztoku, objemu, rychlosti a místě aplikace. Když je osmotický tlak nižší, než je izotonická hodnota, mluvíme o hypotonickém roztoku a jeho aplikace do cévního systému způsobuje popraskání červených krvinek a následné uvolnění hemoglobinu. Je známý jako hemolýza. Aplikace takového roztoku může způsobit až křeče a otoky.

3.2.4.2. Osmóza a osmotický tlak

Proces nazývaný osmóza nastává, pokud přes polopropustnou membránu, která je propustná pouze pro vodu ne pro rozpuštěné látky, prochází rozpouštědlo z místa s menší koncentrací do místa s koncentrací větší, tak aby se ustanovila rovnováha. Tlak, který je třeba vyvinout na membránu, aby se zabránilo osmóze, se nazývá osmotický tlak.^{7,9} Osmotický tlak je přímo úměrný počtu částic rozpuštěných látek v roztoku, za částice jsou považovány molekuly, ionty nebo molekulární dimery.¹⁰

U látek nedisociujících v roztoku závisí proto osmotický tlak na jejich molální koncentraci. U disociujících látek je nutno násobit jejich molální koncentraci ještě počtem částic disociujících z jedné molekuly dané látky. Takže např. u NaCl, kde ve vodě molekuly plně disociují na dvě částice (Na^+ a Cl^-) je osmotická koncentrace dvojnásobkem molální koncentrace.⁷ Osmotický tlak každého roztoku taky závisí na teplotě, s její zvyšující se hodnotou roste také

hodnota osmotického tlaku. Uvedené závislosti shrnuje následující van't Hoffova rovnice.^{6,11,12}

$$\pi = R \cdot T \cdot m \cdot i \quad (1)$$

kde π (Pa) je osmotický tlak, R ($8,314 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$) je univerzální plynová konstanta, T (K) je termodynamická teplota, m (mol/kg) je molalita roztoku a i je van't Hoffův koeficient.

Van't Hoffův koeficient závisí na stupni disociace molekul elektrolytu ve vodném prostředí.⁶

$$i = 1 + \alpha (n - 1) \quad (2)$$

kde α je stupeň disociace a n je počet iontů, na které disociuje molekula elektrolytu.

3.2.5. Koligativní vlastnosti

Jsou známy čtyři základní vlastnosti roztoků, které závisí pouze na počtu rozpuštěných částic a nikoliv na charakteru rozpuštěné látky. Jsou označovány jako koligativní neboli aditivní vlastnosti. Pokud je známa hodnota alespoň jedné z nich, jsme schopni zjistit i zbylé hodnoty. Mezi koligativní vlastnosti patří snížení bodu tuhnutí (kryoskopie), zvýšení bodu varu (ebulioskopie), snížení tenze par a osmotický tlak.¹ Zvýšení bodu varu a snížení bodu tuhnutí jsou dvě veličiny, které jsou nejčastěji měřeny a na jejich základě získány ostatní hodnoty. Měření první z nich je ovšem nákladnější, citlivější na podmínky měření a složitější než měření snížení bodu tuhnutí. Tato metoda je finančně únosná, není příliš časově náročná a je značně přesná, na základě těchto skutečností je i hojně využívána. Velká výhoda této metody je také potřeba velmi malého množství vzorku.

3.2.5.1. Kryoskopie

Teplota tuhnutí čisté kapaliny je teplota, kdy pevná a tekutá fáze jsou při atmosférickém tlaku v rovnováze. Pokud přidáme do rozpouštědla rozpuštěnou látku, sníží se teplota tuhnutí roztoku úměrně s koncentrací rozpuštěné látky.³ Na měření snížení teploty tuhnutí roztoku proti čistému rozpouštědлу je

založena kryoskopie. Jako výstupní hodnotu při takovém měření získáme hodnotu osmolality.

Z experimentálních měření snížení bodu tuhnutí bylo zjištěno, že teplota tuhnutí lidské krve a slzní tekutiny je $-0,52^{\circ}\text{C}$.¹³ Vzhledem k okolnostem, že voda tvoří podstatnou část lidské krve, bylo ustanoveno, že každý vodný roztok, který má teplotu tuhnutí $-0,52^{\circ}\text{C}$ je izotonický s lidskou krví. Samozřejmě platí, že i 0,9 % roztok NaCl, který je izotonický s lidskou krví a slzní tekutinou, má tuto teplotu tuhnutí.

3.2.6. Osmotická koncentrace

Osmotická aktivita částic přítomných v infuzním přípravku se vyjadřuje jako osmotická koncentrace neboli osmolalita a osmolarita. Tyto termíny jsou často v praxi zaměňovány, přitom je důležité je důsledně rozlišovat. Platí, že u hodně zředěných roztoků je hodnota osmolality a osmolarity téměř shodná, čím více je ale roztok koncentrovanější, tím více se tyto dvě hodnoty liší. Je známo, že 1 osmolární roztok látky bude vždy koncentrovanější než 1 osmolální roztok téže látky.^{7,9} Parenterální přípravky jsou většinou hodně zředěné roztoky, tím pádem může být rozdíl mezi hodnotou osmolality a osmolarity poměrně malý, ovšem zároveň se odchylka zvyšuje s rostoucí koncentrací.

3.2.6.1. Osmolalita

Osmolalita je vyjádřena jako celkové množství osmoticky aktivních částic rozpuštěných v 1 kilogramu rozpouštědla. Jako jednotka osmolality se používá Osmol na kilogram rozpouštědla (Osmol/kg), častěji se setkáváme s jednotkou odvozenou miliOsmol na kilogram rozpouštědla (mOsmol/kg). Všeobecně platí, že pokud má roztok osmolální koncentraci n , obsahuje n osmolů rozpuštěné látky na 1 kilogram rozpouštědla. Osmolalita je reálná (experimentální) veličina a lze ji změřit pomocí přístroje zvaného osmometr.

3.2.6.2. Osmolarita

Hodnota osmolarity lidské krve je 306 mOsmol/l.¹ Odchyly od této hodnoty mohou vést až ke zdraví ohrožujícím komplikacím. Osmolarita je vyjádřena jako celkové množství osmoticky aktivních částic rozpuštěných v 1 litru roztoku. Používaná jednotka pro osmolaritu je Osmol na litr roztoku (Osmol/l), častější je opět vyjádření pomocí odvozené jednotky miliOsmol na litr roztoku (mOsmol/l). Analogicky jako u osmolality platí, že roztok má osmolární koncentraci n , pokud obsahuje n osmolů rozpuštěné látky na 1 litr roztoku.⁷ Osmolarita je teoretická veličina, její hodnoty nemohou být změřeny, jsou získávány výpočtem.

Problém je, že neexistuje univerzální postup pro výpočet osmolarity. Jednotlivé literární zdroje a lékopisy uvádějí rozdílné postupy, v důsledku čehož mohou být získané hodnoty osmolarity značně rozdílné. Přitom vyjádření osmotické koncentrace pomocí osmolarity je velice praktické, protože v praxi je jednodušší brát v úvahu objem parenterálního přípravku.

Nejpoužívanější látkou na úpravu osmolarity parenterálních přípravků je chlorid sodný. Nedá se ale použít v přípravcích, kde je důležitá elektrolytická rovnováha např. u přípravků na srdeční terapii. V některých případech jeho použití může ovlivnit i rozpustnost účinné látky, která může v jeho přítomnosti precipitovat. Tento jev je znám jako „vysolování“, pokles rozpustnosti některých látek v důsledku vysoké koncentrace určitých solí. V takovém případě je pak většinou velice těžké znovu rozpustit vysráženou látku. Přidáním rozpouštědla do takového přípravku by bylo možné látku rozpustit, ale zároveň by vzrostl objem přípravku a to je opět jev nežádoucí. Na základě této skutečnosti se s „vysolováním“ setkáváme převážně u maloobjemových přípravků. Dále lze k úpravě osmolarity použít glukosu, mannitol, glycerol, propylenglykol nebo síran sodný, které nemají téměř žádné nežádoucí účinky na kvalitu přípravku.^{1,14} Při úpravě osmolarity parenterálních přípravků se musí brát v úvahu i její ovlivnění ostatními pomocnými látkami jako např. antioxidanty, pufrů nebo protimikrobními látkami.

Na druhou stranu odchylka osmolarity od fyziologické hodnoty je také využívána v terapeutických postupech. Infuzní přípravky s vysokým obsahem mannitolu jsou používány jako osmotická diuretika, aplikace hypertonického 30 % roztoku močoviny se používá při mozkových otocích nebo jako plasmaexpandery jsou využívány roztoky obsahující makromolekuly jako je např. želatina.⁷

U infuzních přípravků je požadováno vyjádření hodnoty osmolarity přímo na obalu. Injekční přípravky tento údaj neobsahují.

3.2.7. Určení osmolarity

Jak již bylo řečeno osmolaritu nelze změřit, ale její hodnotu je možno získat výpočtem. Postup výpočtu osmolarity nebo převodu měřené osmolality na osmolaritu není jednotný. Jednoduchý vztah pro výpočet osmolarity s využitím hodnoty molarity roztoku uvádí USP 30.¹⁰

$$c_{osmol} = c \cdot n \quad (3)$$

kde c_{osmol} (mOsmol/l) je osmolarita roztoku, c (mol/l) je molarita roztoku a n je počet iontů, na které disociuje molekula elektrolytu.

Jiný způsob výpočtu osmolarity je založen na předpokladu, že mezi molalitou a osmolalitou je stejný vztah jako mezi molaritou a osmolaritou.⁷

$$c_{osmol} = \frac{c}{m} \cdot m_{osmol} \quad (4)$$

kde c_{osmol} (mOsmol/l) je osmolarita roztoku, c (mol/l) je molarita roztoku, m (mol/kg) je molalita roztoku a m_{osmol} je osmolalita roztoku.

USP 30 využívá k odhadu osmolarity také postup, v němž se využívá hodnota experimentálně zjištěné osmolality a parciálního měrného objemu látky.¹⁰

$$c_{osmol} = \frac{1000 \cdot m_{osmol}}{\frac{1000}{h} + (M_w \cdot m \cdot V_g)} \quad (5)$$

kde c_{osmol} (mOsmol/l) je osmolarita roztoku, m_{osmol} (mOsmol/kg) je osmolalita roztoku, h (kg/l) je skutečná hustota roztoku, M_w (g/mol) je molární hmotnost látky, m (mol/kg) je molalita roztoku a V_g (ml/g) je parciální měrný objem látky. Parciální měrný objem látky vyjadřuje změnu objemu roztoku při

rozpuštění 1 g látky.¹⁰ Lze ho určit z objemu roztoku, objemu vody v roztoku a hmotnosti rozpuštěné látky.

Jiná metoda pro výpočet osmolarity využívá hodnotu skutečné hustoty roztoku a změřené osmolality.^{7,9,15}

$$c_{\text{osmol}} = m_{\text{osmol}} \cdot [h - (M_w \cdot m)] \quad (6)$$

kde c_{osmol} (mOsmol/l) je osmolarita roztoku, m_{osmol} (mOsmol/kg) je osmolalita roztoku, h (kg/l) je skutečná hustota roztoku, M_w (g/mol) je molární hmotnost látky, m (mol/kg) je molalita roztoku.

3.3. Studované roztoky elektrolytů

Elektrolytové roztoky a jejich směsi tvoří podstatnou část infuzních přípravků. Přípravky, které obsahují tyto látky slouží hlavně k úpravě vnitřního prostředí nebo jako nosné roztoky, pokud je k přípravku přidána léčivá látka.

3.3.1. Octan sodný trihydrát

Přípravky obsahující tuto látku jsou využívány převážně k hydratační terapii a k pokrytí ztrát elektrolytů. Pokud je složení přípravku podobné složení extracelulární tekutiny používá se tento přípravek k dosažení a udržení běžných osmotických poměrů extra- a intracelulární tekutiny.¹⁶

Octan sodný je metabolizován ve svalové a periferní tkáni na bikarbonátový anion.¹⁶ Tento anion reaguje s vodíkovým kationtem za vzniku kyseliny uhličitě. Poklesem koncentrace vodíkových kationtů dochází ke zvýšení pH krve a tím úpravě acidózy.¹⁷ Octan sodný má tedy mírný alkalizující účinek na plazmu.^{18,19} Tento účinek je mírnější z důvodu potřeby delšího času na metabolizaci octanu sodného na bikarbonátový anion.

3.3.2. Hydrogenuhličitan sodný

Přípravek obsahující hydrogenuhličitan sodný je určený k podání pro úpravu metabolické acidózy ve vnitřním prostředí.^{18,19} Hydrogenuhličitan sodný ve vodném prostředí disociuje na sodný kation a bikarbonátový anion. Podáním přípravku, který obsahuje tuto látku se přímo zvyšuje hladina bikarbonátů v

krvi. Jak již bylo řečeno výše, bikarbonát snižuje hladinu vodíkových kationtů a tím upravuje acidózu.^{18,19}

3.3.3. Chlorid amonný

Infuzní přípravky s obsahem chloridu amonného jsou využívány při kompenzaci metabolické alkalózy.^{18,19} Po aplikaci látka disociuje na amonný kation a chloridový anion. Játra mají schopnost při alkalóze z amonných kationtů syntetizovat močovinu a vodíkové kationty, které snižují pH krve a tím dochází k úpravě alkalózy.

Zvýšená hladina chloridových aniontů snižuje hladinu bikarbonátových aniontů. Tím pádem chloridové anionty snižují hodnotu pH krve a upravují alkalózu.³

3.3.4. Mléčnan sodný

Mléčnan sodný je obsažen v infuzních přípravcích spolu s dalšími látkami, jako je např. chlorid sodný, chlorid draselný nebo glukosa. Přípravky obsahující tyto látky jsou převážně využívány při ztrátách vody a elektrolytů nebo jako krátkodobá náhrada intravaskulárního objemu, hlavně v pooperačním období.

Mléčnan sodný obsažený v těchto přípravcích se využívá jako energetický zdroj. V játrech se metabolizuje na bikarbonát a obdobně jako octan sodný má schopnost mírné kompenzace acidózy^{18,19} a tím ovlivňuje hodnotu pH krve. Kompenzace je opět mírnější z důvodu potřeby delšího času na metabolizaci látky na bikarbonát.

4. Experimentální část

4.1. Použité suroviny

Hydrogenuhličitan sodný (Natrii hydrogenocarbonas) ČL 2002, Kulich Hradec Králové/Říčany

Chlorid amonný (Amonii chloridum) ČL 1997, Kulich Hradec Králové/Říčany

Octan sodný trihydrát (Natrii acetate trihydricus) ČL 2005, Kulich Hradec Králové

Mléčnan sodný (Natrii lactatis solutio 60%) Ph. Eur. 5, Penta, Praha

Chlorid sodný (Natrii chloridum) ČL 2002, Kulich Hradec Králové

Čištěná voda ČL 2002, FAF UK HK

Tabulka 2: Molární hmotnost surovin

Surovina	molární hmotnost (g/mol)
Natrii hydrogenocarbonas	84,01
Amonii chloridum	53,49
Natrii acetate trihydricus	136,08
Natrii lactas	112,6

4.2. Použité přístroje

analytické váhy, Kern ABJ 120-4M, Kern & Sohn GmbH, Německo

váhy, Kern 573-46, Kern & Sohn GmbH, Německo

semimikrosmometr DL, Knauer, Německo

sušárna, HS 61A, Chirana, Česká republika

automatická pipeta

kalkulačka Voyage 200, Texas Instruments, Thajvan

4.3. Příprava roztoků

Z každé suroviny jsem připravila roztoky o koncentraci 0,1-1,0 mol/kg. Přesné navážky (s přesností na 0,1 mg) zkoušené látky jsem kvantitativně přenesla do 1000,0 g čištěné vody. Potřebné navážky jsem vypočítala vynásobením molární hmotnosti studované látky a požadované molality roztoku. U mléčnanu sodného byl zjištěný obsah látky 58,8%.

4.4. Ztráta sušením

Suchou a čistou lahvičku se zábrusovým uzávěrem jsem si přesně zvážila (s přesností na 0,1 mg) a naplnila stanovovanou látkou do cca 0,5 cm a znovu zvážila. Poté jsem lahvičku se stanovovanou látkou vložila do sušárny a při zvolené teplotě nechala vysušit do konstantní hmotnosti. Do tabulky číslo 3 jsem uvedla procentuální ztrátu hmotnosti v závislosti na čase. U mléčnanu sodného jsem vzhledem k jeho kapalnému skupenství ztrátu sušením ani zjištění rovnovážné vlhkosti neprováděla.

Tabulka 3: Ztráta sušením zkoumaných látek

čas (h)	ztráta hmotnosti (%)		
	octan sodný (130°C)	hydrogenuhličitan sodný (105°C)	chlorid amonný (105°C)
1	27,22	0,92	0,07
2	36,20	1,68	0,12
3	39,36	2,41	0,18
4	39,80	2,81	0,19
5	39,90	3,66	0,19
6	39,90	4,02	—
7	—	4,24	—
8	—	4,25	—
9	—	4,25	—

4.5. Rovnovážná vlhkost

Lahvičku z předchozí úlohy (ztráta sušením) se stanovovanou látkou jsem otevřela a nechala stát volně na vzduchu a sledovala sorpci vzdušné vlhkosti v závislosti na čase do konstantní hmotnosti. Zkoušku jsem prováděla při průměrné teplotě $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$ a vlhkosti $63 \pm 1\%$. Do tabulky číslo 4 jsem uvedla procentuální rovnovážnou vlhkost v závislosti na čase.

Tabulka 4: Stanovení rovnovážné vlhkosti zkoumaných látek

čas (h)	přírůstek hmotnosti (%)		
	octan sodný	hydrogenuhličitan sodný	chlorid amonný
4	0,026	0,010	0,005
8	—	0,016	—
24	0,038	0,065	0,170
32	—	0,072	0,280
48	—	0,120	0,280
72	0,045	0,170	—
96	0,045	0,230	—
120	—	0,290	—
192	—	0,410	—
216	—	0,410	—

4.6. Pyknometrické stanovení hustoty

Ke stanovení hustoty roztoků jsem použila pět pyknometrů. Před stanovením hustoty jsem pyknometr očistila propláchnutím v lihobenzinu a důkladně jsem ho vysušila. Poté jsem pyknometr zvažila na analytických vahách a výslednou hmotnost (s přesností na 0,1 mg) jsem zaznamenala. Určila jsem vodné číslo pyknometru tak, že zvážený pyknometr jsem naplnila čištěnou vodou a temperovala 30 minut ve vodní lázni při 25°C . Důkladně osušený pyknometr jsem opět zvažila a hodnoty zaznamenala. Vodné číslo jsem vypočítala jako

rozdíl hmotnosti pyknometru naplněného čištěnou vodou a hmotnosti prázdného pyknometru. Suchý a čistý pyknometr jsem poté naplnila zkoumaným roztokem a zvážila na analytických vahách. Získané hodnoty jsem si zaznamenala. Vypočítala jsem hmotnost zkoumané kapaliny jako rozdíl hmotnosti pyknometru naplněného zkoumanou kapalinou a hmotnosti prázdného pyknometru.

Z hmotnosti zkoumané kapaliny jsem vypočítala relativní hustotu zkoumaného roztoku jako podíl hmotnosti zkoumané kapaliny a vodného čísla pyknometru. Z relativní hustoty roztoku a hustoty vody při 25°C (0,9971 kg/l)²⁰ jsem vypočítala skutečnou hustotu roztoků h (kg/l), kterou jsem zaznamenala do tabulek. V tabulkách číslo 5-8 je uvedena průměrná hodnota 5 měření vzorku.

$$h = h_{rel} \cdot h_v \quad (7)$$

kde h (kg/l) je skutečná hustota roztoku, h_{rel} (kg/l) je relativní hustota roztoku a h_v je hustota vody při 25°C.

Vypočítala jsem hmotnost roztoku M (g) jako součet navážky a hmotnosti čištěné vody, kterou jsem potřebovala na přípravu roztoku o dané molalitě.

Ze získané skutečné hustoty a hmotnosti roztoku jsem vypočítala objem roztoku.

$$V = \frac{M}{h} \quad (8)$$

kde V (l) je objem roztoku, M (kg) je hmotnost roztoku a h (kg/l) je skutečná hustota roztoku.

Molaritu roztoku jsem vypočítala podle vzorce.

$$c = \frac{m \cdot h}{M} \quad (9)$$

kde c (mol/l) je molarita roztoku, m (mol/kg) je molalita roztoku, h (kg/l) je skutečná hustota roztoku a M (kg) je hmotnost roztoku.

Vypočítala jsem parciální měrný objem látky V_g (ml/g). Je to objem, který vyjadřuje změnu objemu roztoku při rozpuštění 1 g látky.¹⁰

$$V_g = \frac{(V - V_v)}{M_w \cdot m} \quad (10)$$

kde V_g (ml/g) je parciální měrný objem látky, V (ml) je objem roztoku, V_v (ml) je objem vody, M_w (g/mol) je molární hmotnost látky a m (mol/kg) je molalita roztoku. Zjištěné hodnoty jsou shrnuty v tabulkách číslo 5 - 8.

4.7. Měření osmolality

Pro přípravu kalibračního roztoku NaCl o koncentraci 400 mOsmol/kg jsem navážila přesně 1000,0 g čištěné vody a v ní jsem kvantitativně rozpustila navážku 12,6870 g chloridu sodného. Osmometr jsem vykalibrovala nejprve na čištěnou vodu o koncentraci 0 mOsmol/kg a poté na kalibrační roztok NaCl o koncentraci 400 mOsmol/kg. Následně jsem změřila osmolalitu zkoumaných roztoků, tak že jsem suchou a čistou zkumavku naplnila pomocí automatické pipety přesně 0,15 ml zkoumaného roztoku. Naplněnou zkumavku jsem umístila do osmometru a změřila osmolalitu. Získané hodnoty jsem si zaznamenala. Do tabulek číslo 9 - 12 jsem uvedla průměrné hodnoty z 5 měření vzorku, které se mezi sebou nelišily o více než 5 mOsmol/kg.

Po změření vzorku jsem vyjmula zkumavku z osmometru důkladně jsem ji očistila čištěnou vodou a vysušila do sucha. Stejnou zkumavku jsem opět pomocí automatické pipety naplnila novým zkoumaným roztokem a pokračovala v měření osmolality.

4.8. Odhad osmolarity

Ze získané průměrné osmolality jsem pro jednotlivé roztoky zkoumaných látek vypočítala teoretickou a aktuální osmolaritu.

Teoretickou osmolaritu¹⁰ podle rovnice 3, aktuální osmolaritu⁷ podle rovnice 4 a aktuální osmolaritu dle USP¹⁰ podle rovnice 5.

Výsledky jsem shrnula do tabulek číslo 9 - 12 a grafů číslo 5 - 8.

4.9. Určení molálního osmotického koeficientu

Molální osmotický koeficient použitých elektrolytů jsem vypočítala podle vztahu:¹⁰

$$\Phi = \frac{m_{osmol}}{m \cdot n} \quad (11)$$

kde Φ je molální osmotický koeficient, m_{osmol} (mOsmol/kg) je osmolalita roztoku, m (mol/kg) je molalita roztoku a n je počet iontů, na které disociuje molekula elektrolytu.

Výsledky jsem shrnula do tabulky číslo 15 a grafů číslo 9-12.

5. Výsledky

Tabulka 5: Vlastnosti infuzních roztoků octanu sodného

molalita (mol/kg)	navážka (g)	hmotnost roztoku (g)	hustota (kg/l)	objem roztoku (l)	molarita (mmol/l)
0,1	13,6080	1013,6080	1,0016	1,0120	98,8
0,2	27,2160	1027,2160	1,0052	1,0219	195,7
0,3	40,8240	1040,8240	1,0060	1,0346	290,0
0,4	54,4320	1054,4320	1,0132	1,0407	384,4
0,5	68,0400	1068,0400	1,0167	1,0505	476,0
0,6	81,6480	1081,6480	1,0204	1,0600	566,0
0,7	95,2560	1095,2560	1,0243	1,0693	654,6
0,8	108,8640	1108,8640	1,0278	1,0789	741,5
0,9	122,4720	1122,4720	1,0314	1,0883	827,0
1,0	136,0800	1136,0800	1,0346	1,0981	910,7

Tabulka 6: Vlastnosti infuzních roztoků hydrogenuhličitanu sodného

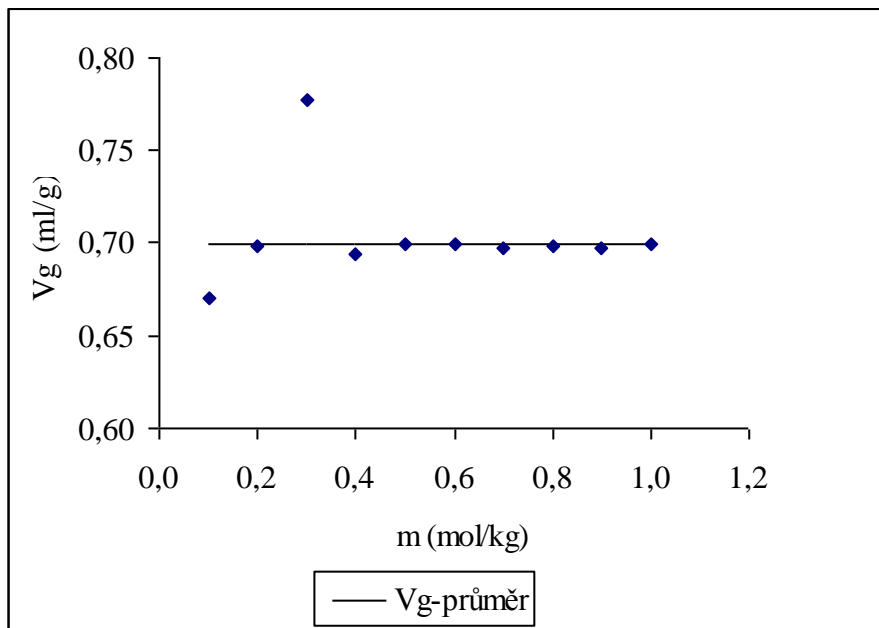
molalita (mol/kg)	navážka (g)	hmotnost roztoku (g)	hustota (kg/l)	objem roztoku (l)	molarita (mmol/l)
0,1	8,4010	1008,4010	1,0033	1,0051	99,5
0,2	16,8020	1016,8020	1,0091	1,0076	198,5
0,3	25,2030	1025,2030	1,0148	1,0103	296,9
0,4	33,6040	1033,6040	1,0204	1,0130	394,9
0,5	42,0050	1042,0050	1,0263	1,0153	492,5
0,6	50,4060	1050,4060	1,0315	1,0183	589,2
0,7	58,8070	1058,8070	1,0371	1,0209	685,7
0,8	67,2080	1067,2080	1,0425	1,0237	781,5
0,9	75,6090	1075,6090	1,0479	1,0264	876,9
1,0	84,0100	1084,0100	1,0529	1,0296	971,3

Tabulka 7: Vlastnosti infuzních roztoků chloridu amonného

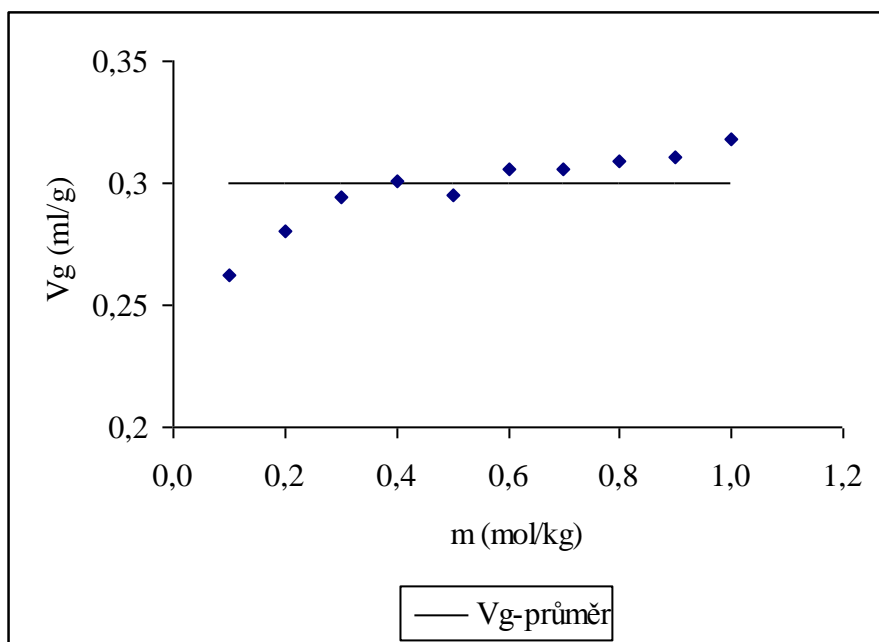
molalita (mol/kg)	navážka (g)	hmotnost roztoku (g)	hustota (kg/l)	objem roztoku (l)	molarita (mmol/l)
0,1	5,3490	1005,3490	0,9997	1,0057	99,4
0,2	10,6980	1010,3980	1,0007	1,0097	198,1
0,3	16,0470	1016,0470	1,0024	1,0137	295,9
0,4	21,3960	1021,3960	1,0041	1,0172	393,2
0,5	26,7450	1026,7450	1,0056	1,0210	489,7
0,6	32,0940	1032,0940	1,0067	1,0252	585,3
0,7	37,4430	1037,4430	1,0085	1,0287	680,5
0,8	42,7920	1042,7920	1,0102	1,0323	775,0
0,9	48,1410	1048,1410	1,0115	1,0362	868,6
1,0	53,4900	1053,4900	1,0132	1,0398	961,7

Tabulka 8: Vlastnosti infuzních roztoků mléčnanu sodného

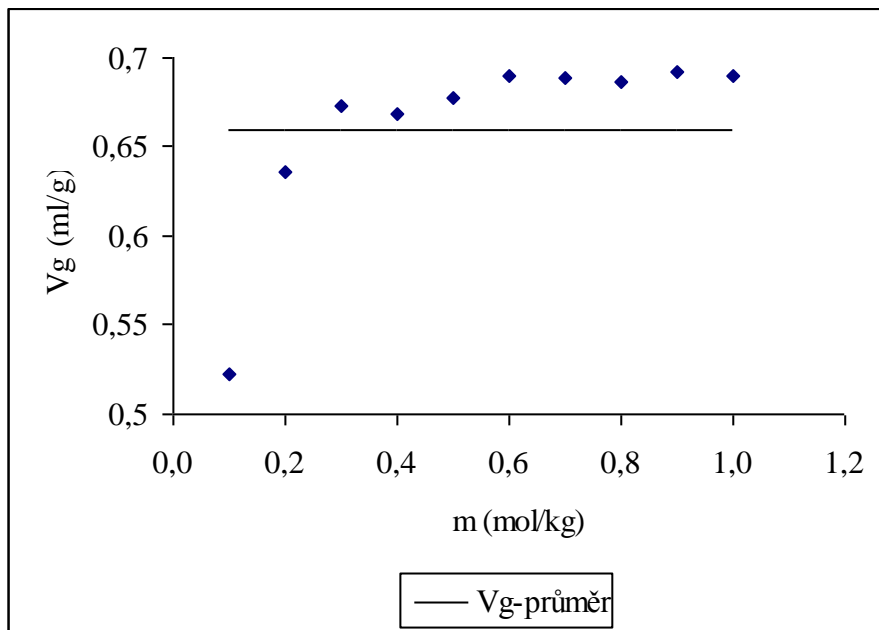
molalita (mol/kg)	navážka (g)	hmotnost roztoku (g)	hustota (kg/l)	objem roztoku (l)	molarita (mmol/l)
0,1	11,2600	1011,2600	1,0028	1,0084	99,2
0,2	22,5600	1022,5600	1,0077	1,0147	197,5
0,3	33,7800	1033,7800	1,0160	1,0175	294,8
0,4	45,0400	1045,0400	1,0209	1,0236	390,8
0,5	56,0300	1056,0300	1,0229	1,0327	481,8
0,6	67,5600	1067,5600	1,0278	1,0387	577,6
0,7	78,8200	1078,8200	1,0321	1,0453	669,7
0,8	90,0800	1090,0800	1,0365	1,0517	760,7
0,9	101,3400	1101,3400	1,0408	1,0582	850,5
1,0	112,6000	1112,6000	1,0424	1,0673	936,9



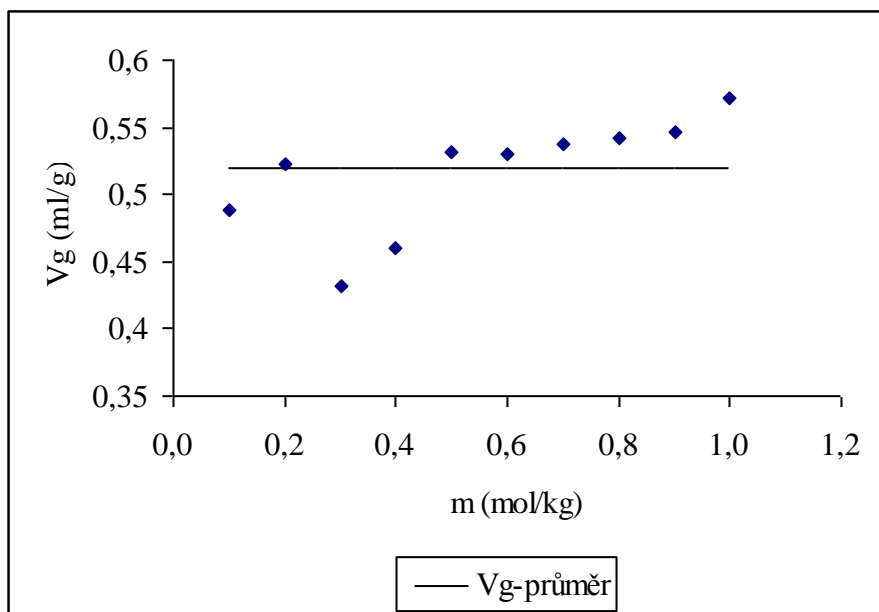
Graf 1: Závislost parciálního měrného objemu roztoku octanu sodného na molalităě



Graf 2: Závislost parciálního měrného objemu roztoku hydrogenuhličitanu sodného na molalităě



Graf 3: Závislost parciálního měrného objemu roztoku chloridu amonného na molalitě



Graf 4: Závislost parciálního měrného objemu roztoku mléčnanu sodného na molalitě

Tabulka 9: Odhad osmolarity roztoků octanu sodného

m (mol/kg)	m_{osmol} (mOsmol/kg)	h (kg/l)	V_g (ml/g)	odhad osmolarity c_{osmol} (mOsmol/l)		
				teoretická (rovnice 3)	aktuální (rovnice 4)	aktuální-USP (rovnice 5)
0,1	191,2	1,0016	0,67	197,6	188,9	189,8
0,2	376,8	1,0052	0,70	391,4	368,7	371,6
0,3	569,4	1,0060	0,78	580,0	550,4	555,0
0,4	752,2	1,0132	0,69	768,8	722,9	733,8
0,5	927,0	1,0167	0,70	952,0	882,5	899,0
0,6	1117,0	1,0204	0,70	1132,0	1053,7	1077,0
0,7	1308,4	1,0243	0,70	1309,2	1223,5	1254,5
0,8	1502,6	1,0278	0,70	1483,0	1392,7	1432,2
0,9	1697,4	1,0314	0,70	1654,0	1559,7	1608,5
1,0	1885,0	1,0346	0,70	1821,4	1716,7	1775,3

Tabulka 10: Odhad osmolarity roztoků hydrogenuhličitanu sodného

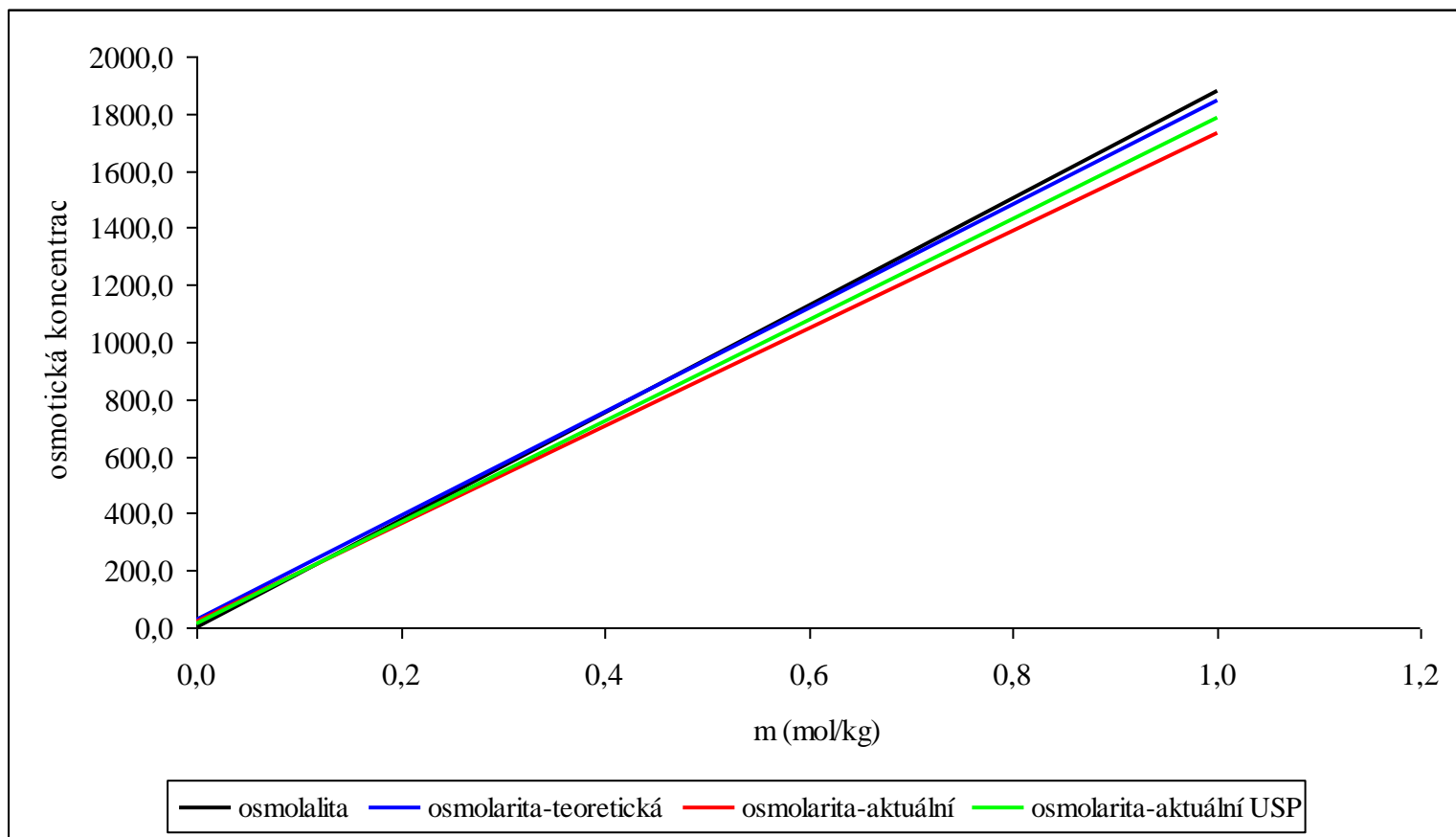
m (mol/kg)	m_{osmol} (mOsmol/kg)	h (kg/l)	V_g (ml/g)	odhad osmolarity c_{osmol} (mOsmol/l)		
				teoretická (rovnice 3)	aktuální (rovnice 4)	aktuální-USP (rovnice 5)
0,1	182,2	1,0033	0,26	199,0	181,3	181,6
0,2	361,4	1,0091	0,28	397,0	358,7	360,4
0,3	509,0	1,0148	0,29	593,8	503,7	506,4
0,4	680,8	1,0204	0,30	789,8	672,1	678,6
0,5	809,6	1,0263	0,30	985,0	797,5	806,6
0,6	985,4	1,0315	0,31	1178,4	967,7	980,7
0,7	1130,2	1,0371	0,31	1371,4	1107,1	1124,1
0,8	1263,0	1,0425	0,31	1563,0	1233,8	1255,1
0,9	1411,4	1,0479	0,31	1753,8	1375,2	1401,3
1,0	1508,6	1,0529	0,32	1942,6	1465,3	1495,8

Tabulka 11: Odhad osmolarity roztoků chloridu amonného

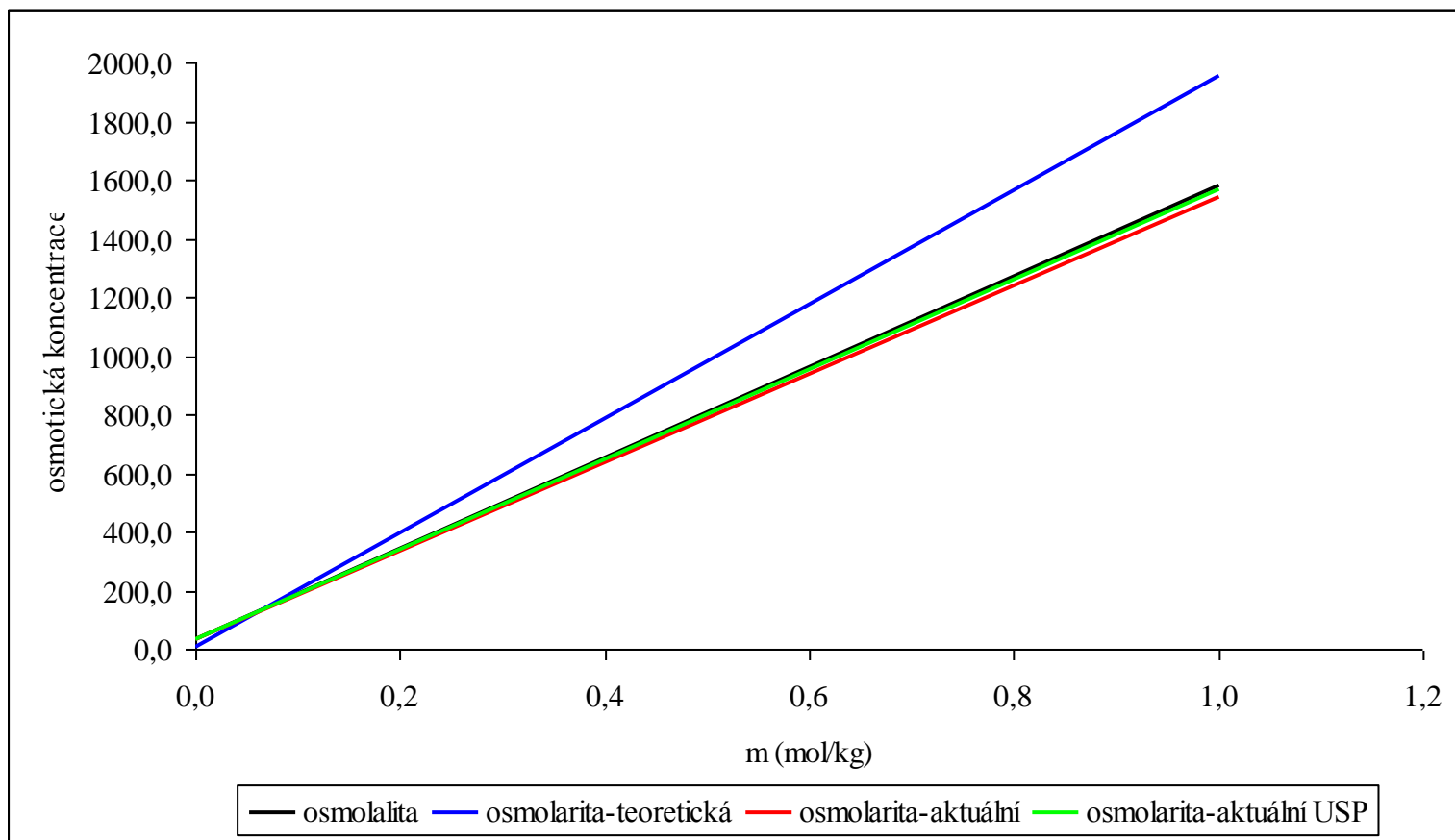
m (mol/kg)	m_{osmol} (mOsmol/kg)	h (kg/l)	V_g (ml/g)	odhad osmolarity c_{osmol} (mOsmol/l)		
				teoretická (rovnice 3)	aktuální (rovnice 4)	aktuální-USP (rovnice 5)
0,1	202,8	0,9997	0,52	198,8	201,6	202,2
0,2	385,4	1,0007	0,64	396,2	381,7	383,0
0,3	554,0	1,0024	0,67	591,8	546,4	549,4
0,4	780,0	1,0041	0,67	786,4	766,7	772,1
0,5	905,2	1,0056	0,68	979,4	886,6	893,9
0,6	1080,8	1,0067	0,69	1170,6	1054,3	1064,0
0,7	1240,8	1,0085	0,69	1361,0	1206,2	1219,6
0,8	1520,2	1,0102	0,69	1550,0	1472,7	1491,2
0,9	1590,6	1,0115	0,69	1737,2	1535,1	1556,6
1,0	1880,0	1,0132	0,69	1923,4	1808,0	1836,2

Tabulka 12: Odhad osmolarity roztoků mléčnanu sodného

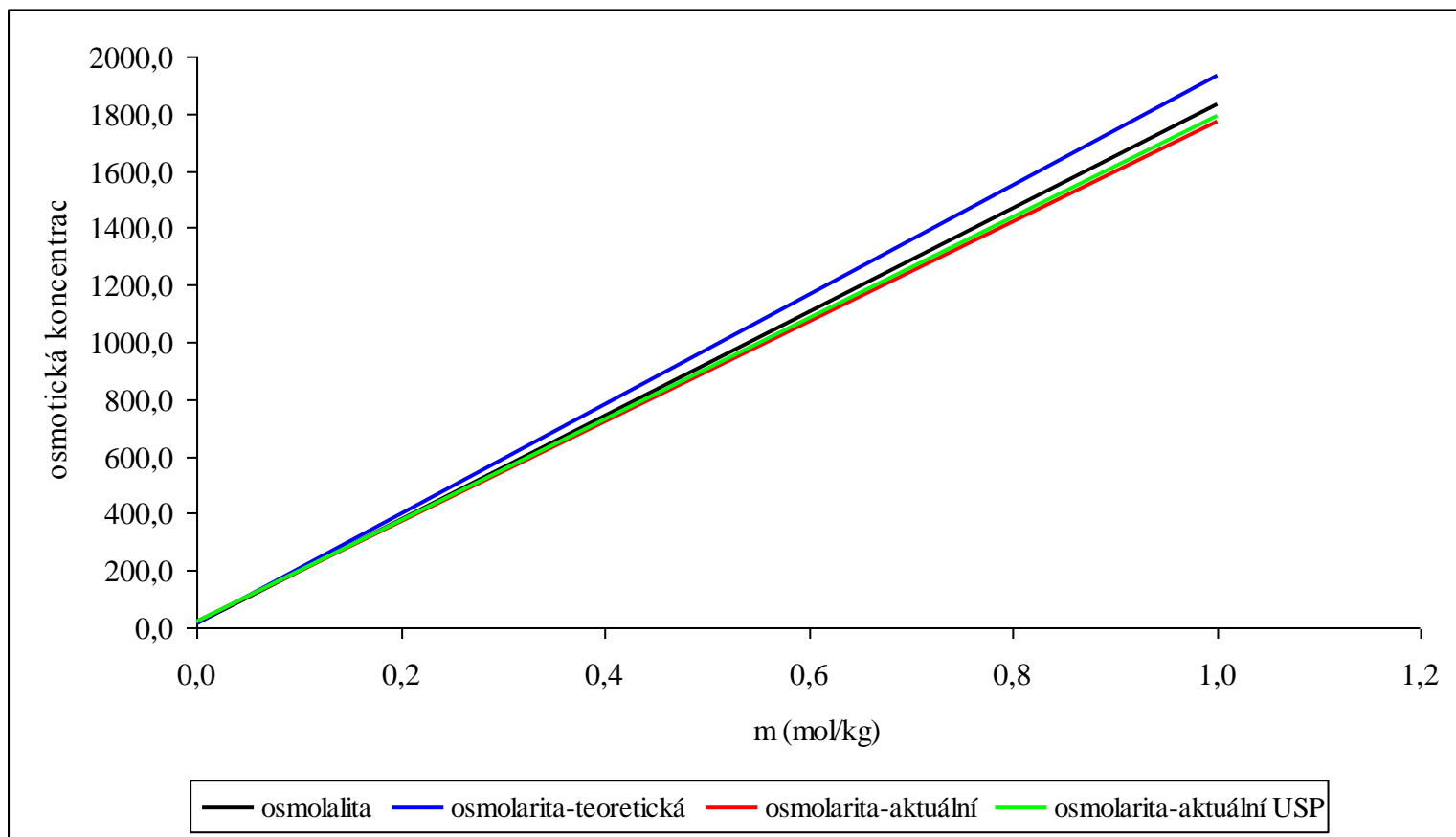
m (mol/kg)	m_{osmol} (mOsmol/kg)	h (kg/l)	V_g (ml/g)	odhad osmolarity c_{osmol} (mOsmol/l)		
				teoretická (rovnice 3)	aktuální (rovnice 4)	aktuální-USP (rovnice 5)
0,1	187,0	1,0028	0,49	198,3	185,4	186,5
0,2	369,3	1,0077	0,52	394,9	364,6	367,8
0,3	543,8	1,0160	0,43	589,7	534,4	544,5
0,4	725,8	1,0209	0,46	781,6	709,1	725,6
0,5	897,0	1,0229	0,53	963,7	864,4	890,4
0,6	1072,2	1,0278	0,53	1155,3	1032,3	1062,9
0,7	1239,4	1,0321	0,54	1339,3	1185,7	1225,4
0,8	1415,0	1,0365	0,54	1521,3	1345,4	1396,3
0,9	1561,4	1,0408	0,55	1701,0	1475,5	1536,0
1,0	1743,4	1,0424	0,57	1873,9	1633,5	1703,4



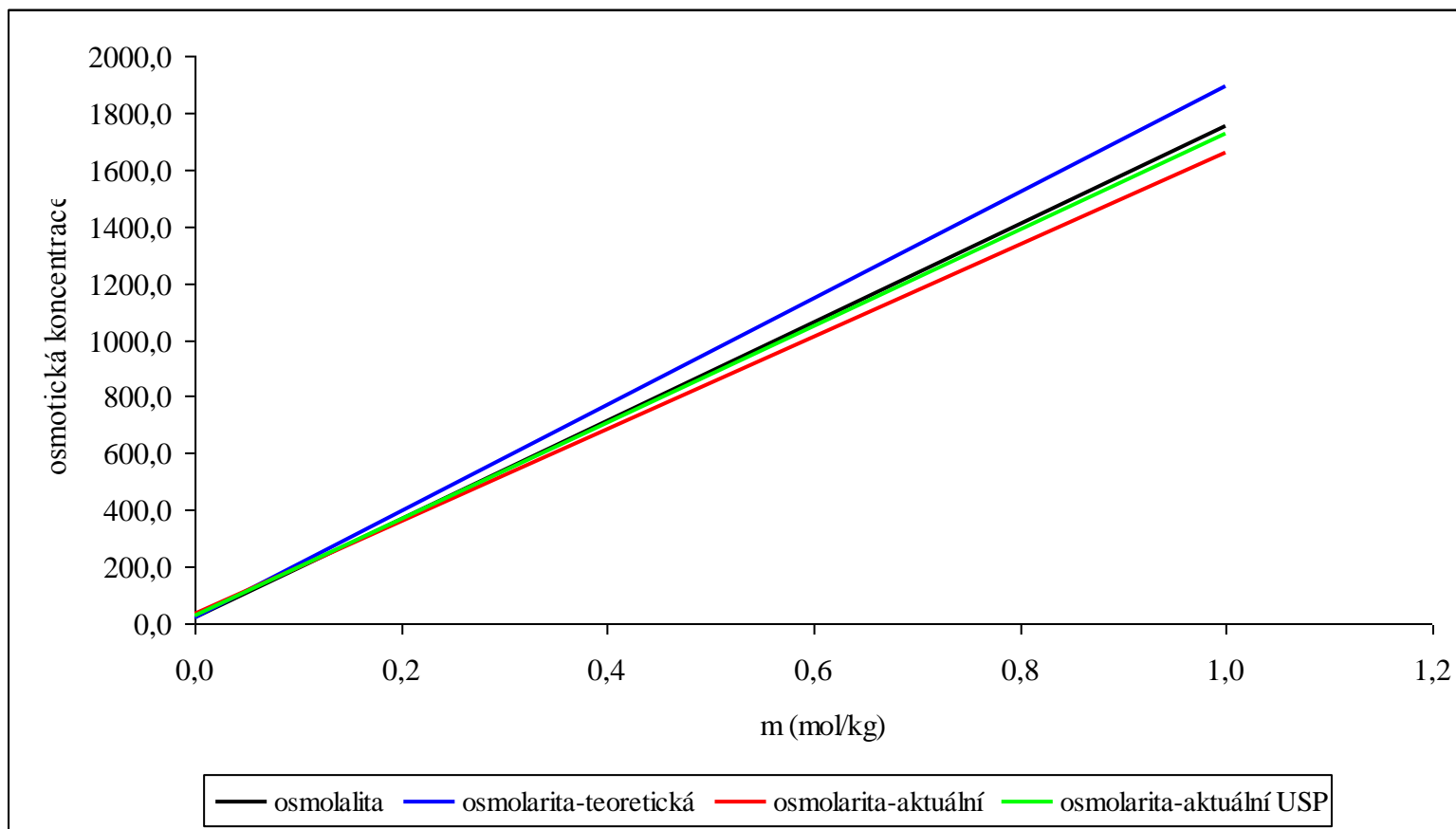
Graf 5: Závislost osmotické koncentrace na molalitě roztoku octanu sodného



Graf 6: Závislost osmotické koncentrace na molalitě roztoku hydrogenuličitanu sodného



Graf 7: Závislost osmotické koncentrace na molalitě roztoku chloridu amonného



Graf 8: Závislost osmotické koncentrace na molalitě roztoku mléčnanu sodného

Tabulka 13: Závislost molarity roztoků zkoumaných látek na jejich molalitě

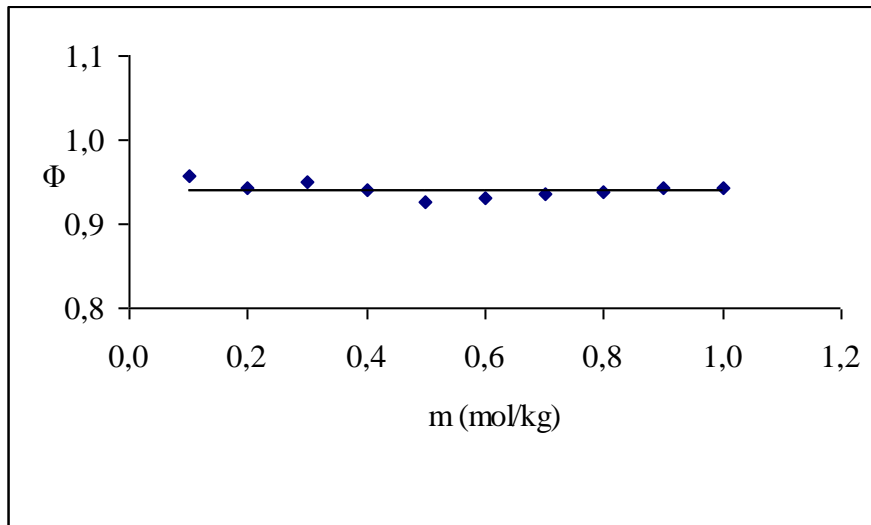
látka	regresní rovnice	r
octan sodný	$c=910,636 \cdot m+12,5$	0,9997
hydrogenuhličitan sodný	$c=971,636 \cdot m+3,727$	1,0000
chlorid amonný	$c=962,091 \cdot m+5,136$	0,9999
mléčnan sodný	$c=938,091 \cdot m+9,318$	0,9998

Tabulka 14: Závislost osmolarity roztoků zkoumaných látek na jejich osmolalitě

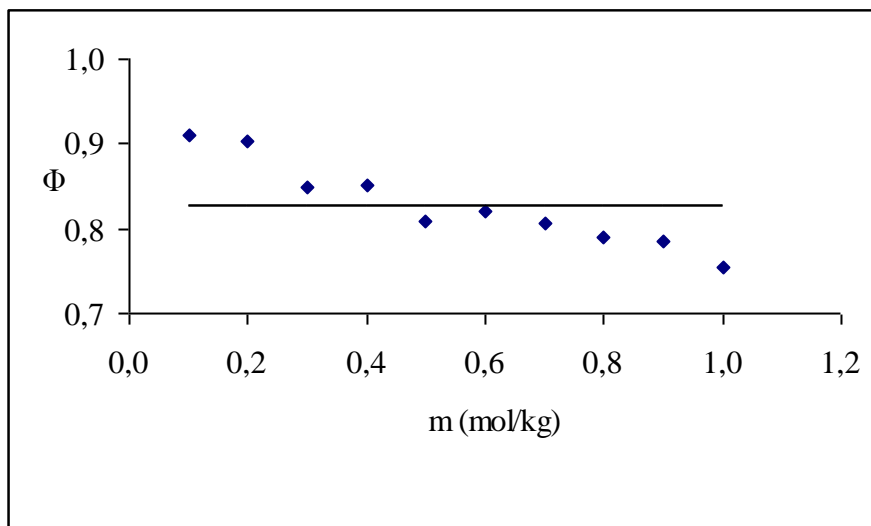
látka	regresní rovnice		r
octan sodný	teoretická	$c_{osmol}=0,969 \cdot m_{osmol}+25,942$	0,9995
	aktuální	$c_{osmol}=0,910 \cdot m_{osmol}+23,691$	0,9997
	aktuální-USP	$c_{osmol}=0,942 \cdot m_{osmol}+15,241$	0,9999
hydrogenuhličitan sodný	teoretická	$c_{osmol}=1,276 \cdot m_{osmol}-45,893$	0,9989
	aktuální	$c_{osmol}=0,972 \cdot m_{osmol}+6,549$	1,0000
	aktuální-USP	$c_{osmol}=0,992 \cdot m_{osmol}+1,612$	1,0000
chlorid amonný	teoretická	$c_{osmol}=1,052 \cdot m_{osmol}+2,326$	0,9980
	aktuální	$c_{osmol}=0,961 \cdot m_{osmol}+10,244$	0,9999
	aktuální-USP	$c_{osmol}=0,976 \cdot m_{osmol}+6,252$	1,0000
mléčnan sodný	teoretická	$c_{osmol}=1,081 \cdot m_{osmol}-2,075$	0,9999
	aktuální	$c_{osmol}=0,938 \cdot m_{osmol}+16,592$	0,9998
	aktuální-USP	$c_{osmol}=0,980 \cdot m_{osmol}+7,451$	0,9999

Tabulka 15: Molální osmotické koeficienty

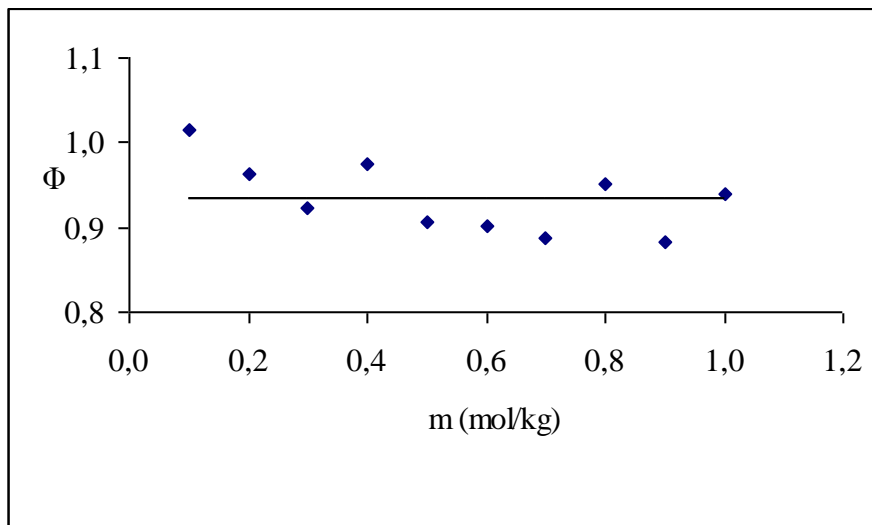
m (mol/kg)	molální osmotický koeficient Φ			
	octan sodný	hydrogenuhličitan sodný	chlorid amonný	mléčnan sodný
0,1	0,9560	0,9110	1,0140	0,9350
0,2	0,9420	0,9035	0,9635	0,9233
0,3	0,9490	0,8483	0,9233	0,9063
0,4	0,9403	0,8510	0,9750	0,9073
0,5	0,9270	0,8096	0,9052	0,8970
0,6	0,9308	0,8212	0,9007	0,8935
0,7	0,9346	0,8073	0,8863	0,8853
0,8	0,9391	0,7894	0,9501	0,8844
0,9	0,9430	0,7841	0,8837	0,8674
1,0	0,9425	0,7543	0,9400	0,8717
průměr	0,9404	0,8280	0,9342	0,8971



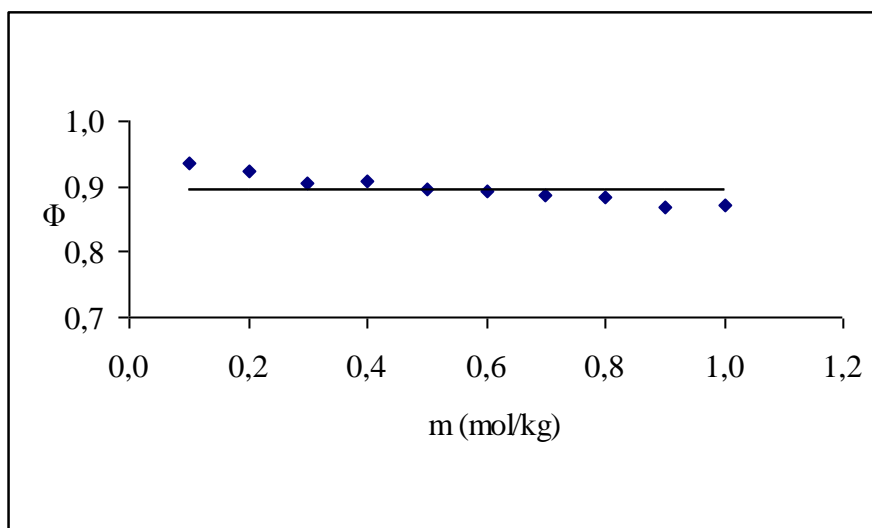
Graf 9: Závislost molálního osmotického koeficientu roztoku octanu sodného na molalitě roztoku ($-\Phi$ průměr)



Graf 10: Závislost molálního osmotického koeficientu roztoku hydrogenuhličitanu sodného na molalitě roztoku ($-\Phi$ průměr)



Graf 11: Závislost molálního osmotického koeficientu roztoku chloridu amonného na molalitě roztoku ($\text{—}\Phi$ průměr)



Graf 12: Závislost molálního osmotického koeficientu roztoku mléčnanu sodného na molalitě roztoku ($\text{—}\Phi$ průměr)

6. Diskuse

U parenterálních přípravků hraje hodnota osmotického tlaku důležitou roli. Pokud se osmotický tlak významně liší od fyziologické hodnoty, dochází k podráždění tkáně a bolesti, případně může být ohroženo zdraví pacienta. Míra poškození závisí na velikosti odchylky od fyziologické hodnoty, koncentraci přípravku, místu podání, objemu přípravku, rychlosti podání atd. Aplikace hypotonického přípravku může způsobit praskání červených krvinek neboli hemolýzu, což může vést až ke křečím a otokům, hypertonický přípravek může vyvolat scvrkávání krvinek neboli hemoptýzu. Rychlá aplikace hypertonického přípravku vede k vážným poruchám oběhového a respiračního systému, někdy až k srdečnímu selhání a plicnímu otoku. Pokud je hypertonický přípravek aplikován pomalu a v malém objemu do velké žíly je jeho aplikace možná, protože dochází k rychlému zředění přípravku v oběhovém systému.⁷ Na druhé straně, ale i aplikace velkého objemu izotonického přípravku může způsobit cirkulační selhání na základě zvětšení objemu extracelulární tekutiny.

Osmotická aktivita částic přítomných v parenterálním přípravku se vyjadřuje jako osmotická koncentrace neboli osmolalita a osmolarita. Osmolalita je vyjádřena jako celkové množství osmoticky aktivních částic rozpuštěných v 1 kilogramu rozpouštědla.⁷ Osmolalita je měřená veličina; její reálná hodnota se měří pomocí osmometru. Osmolarita vyjadřuje celkové množství osmoticky aktivních částic rozpuštěných v 1 litru roztoku.⁷ Praktickým problémem je, že osmolaritu nelze změřit, ale pouze odhadnout pomocí výpočtů.

V této diplomové práci byla studována závislost osmolality vodných roztoků vybraných elektrolytů používaných v parenterálních roztocích: octanu sodného, hydrogenuhličitanu sodného, chloridu amonného a mléčnanu sodného na jejich odstupňované molalitě. K následnému odhadu osmolarity byly využity postupy uváděné v současných lékopisech.

U použitých elektrolytů s výjimkou 58,8% roztoku mléčnanu sodného byl zjištěn obsah vlhkosti. Látky byly sušeny do konstantní hmotnosti při definované teplotě a následně byl zjištěn rovnovážný obsah vlhkosti při uchovávání v otevřené nádobě v laboratorních podmínkách ($25 \pm 0,5^\circ\text{C}$, vlhkost $63 \pm 1\%$). Výsledky jsou shrnuty v tabulkách číslo 3 - 4. Obsah vlhkosti byl nejvýraznější u octanu sodného, kde docházelo ke ztrátě krystalické vody. Žádná z látek nevykazovala výrazné hygroskopické vlastnosti při uchovávání v podmínkách laboratoře.

K měření osmolality byly připraveny roztoky látek v koncentracích 0,1-1,0 mol/kg tak, že navážka látky byla rozpuštěna v části vody a poté byl doplněn zbytek vody tak, aby celková hmotnost vody byla 1,0 kg. Příprava roztoků v molální koncentraci umožňuje eliminovat změny objemu v závislosti na teplotě. K převodu molality na molaritu je nutná znalost hustoty roztoku. Hustota byla stanovena pomocí pyknometru při teplotě $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Relativní hustota (h_{rel}) byla přepočtena na hustotu skutečnou (h) vynásobením relativní hustoty roztoku hustotou vody při 25°C (rovnice 7). Z hustoty roztoku, jeho hmotnosti a objemu se zjistí molarita roztoku (mol/l) podle rovnice 9. Výsledky pro jednotlivé roztoky zkoumaných látek jsou uvedeny v tabulkách číslo 5 - 8.

Závislost molarity na molalitě roztoku byla vyjádřena rovnicemi lineární regrese, které jsou uvedeny v tabulce číslo 13 spolu s koeficientem korelace v rozmezí 0,9997 - 1,0000.

Osmolalita (m_{osmol} , mOsmol/kg) roztoků látek byla měřena pomocí osmometru. V tabulkách číslo 9 - 12 jsou uvedeny průměrné hodnoty z pěti měření, které se nelišily více než o 5 mOsmol/kg. K odhadu osmolarity (c_{osmol} , mOsmol/l) lze využít několik metod. Teoretická osmolarita¹⁰ byla určena jako násobek molární koncentrace (c) a počtu iontů (n), které látka při rozpouštění tvoří (rovnice 3). Na základě úvahy, že mezi molalitou a osmolalitou je stejný vztah jako mezi molaritou a osmolaritou⁷ byla pomocí rovnice 4 vyjádřena aktuální osmolarita. Odhad aktuální osmolarity pomocí parciálního měrného objemu

látky (V_g , ml/g) umožňuje USP¹⁰ (rovnice 5). Parciální měrný objem vyjadřuje změnu objemu roztoku při rozpouštění 1 g látky.¹⁰ Lze ho určit z objemu roztoku, objemu vody v roztoku a hmotnosti rozpuštěné látky (rovnice 10). Experimentálně zjištěné hodnoty parciálního měrného objemu pro jednotlivé látky jsou zachycené v grafech číslo 1 - 4 s vyznačením linie pro průměrný parciální měrný objem.

Pro všechny roztoky studovaných látek byla odhadnuta osmolarita pomocí uvedených tří postupů. Výsledky jsou uvedeny v pravé části tabulek číslo 9 - 12. Porovnání odchylek odhadů od měřené osmolality umožňují grafy číslo 5 - 8. Vztah mezi osmolaritou a osmolalitou vyjadřují rovnice lineární regrese uvedené v tabulce číslo 14; rovnice jsou charakterizovány korelačním faktorem v rozmezí 0,9980 - 1,0000. Z výsledků je zřejmé, že odhady osmolarity jsou blízké měřené osmolalitě pouze u nízkých koncentrací (cca $m < 0,2$ mol/kg). To je v souladu s literárními údaji, kdy pro zředěné roztoky je možné rozdíl mezi osmolalitou a osmolaritou zanedbat.^{7,9} Se zvyšující se molalitou se rozdíl mezi osmolalitou a osmolaritou zvyšují. Přitom pro použité látky poskytuje nejpřesnější odhad osmolarity metoda USP využívající parciální měrný objem.¹⁰ Nejmenší přesnost odhadu osmolarity byla zaznamenána pro výpočet teoretické osmolarity z molarity roztoku a počtu vzniklých částic (iontů) podle rovnice 3. Překvapivě se právě tato metoda ukázala jako nejpřesnější pro roztoky octanu sodného. Chování elektrolytu ovlivňuje pravděpodobně velký podíl krystalické vody. Pro potvrzení této domněnky je zatím málo experimentálních podkladů. Přitom závislost osmotické koncentrace na molalitě roztoku octanu sodného je v souladu s literárními údaji.²¹

Určení osmolality z molality roztoku umožňuje rovnice 11.¹⁰ Při zohlednění počtu vznikajících částic při rozpouštění látky (n) je ze známé (měřené) osmolality možné z rovnice 11 vyjádřit molální osmotický koeficient (Φ). Hodnota molálního osmotického koeficientu odráží interakce mezi vznikajícími částicemi látky v roztoku a jejich osmotický efekt.⁷ To je důležité

především u roztoků elektrolytů. U neelektrolytů se molální osmotický koeficient neuvažuje. Aktuální hodnota molálního osmotického koeficientu je závislá na koncentraci roztoku, se zvyšující se koncentrací se snižuje. Pro studované látky jsou zjištěné molální osmotické koeficienty shrnuty v tabulce číslo 15, v posledním řádku je uvedena průměrná hodnota molálního osmotického koeficientu. Experimentálně zjištěné hodnoty jsou prezentovány v grafech číslo 9 - 12 opět s vyznačením průměrného molálního osmotického koeficientu.

K odhadu osmolality podle vztahu 11 lze využít průměrnou hodnotu molálního osmotického koeficientu. V tabulce číslo 16 jsou ilustrovány odchylky teoretické osmolality od skutečné (měřené) osmolality. Nejpřesnější odhad umožňuje průměrný $\Phi = 0,9404$ pro octan sodný v rozmezí procentuální odchylky 0,2 - 1,6 % (tabulka číslo 16), zatímco např. pro hydrogenuhličitan sodný s průměrným $\Phi = 0,8280$ jsou odchylky výrazné (cca 10%). Rozdíl je patrný rovněž porovnáním grafu číslo 9 a 10, kdy u hydrogenuhličitanu sodného (graf číslo 10) jsou průměrné hodnotě nejbližší aktuálně molální osmotické koeficienty pouze pro rozmezí molality 0,5 - 0,7 mol/kg. Rozdíly ve zjištěných hodnotách lze vysvětlit chováním elektrolytů. Zatímco hydrogenuhličitan sodný je podobně jako chlorid sodný nebo chlorid draselný silnější elektrolyt s výrazným ovlivněním molálního osmotického koeficientu koncentrací, organické elektrolyty či hydráty elektrolytů se chovají „ideálněji“. Podobné výsledky jako pro octan sodný a mléčnan sodný byly zjištěny také pro hydráty chloridu hořečnatého a chloridu vápenatého.²²

Tabulka 16: Odhad osmolality zkoumaných roztoků z průměrného molálního osmotického koeficientu

látka	průměr Φ	0,1 mol/kg			1,0 mol/kg		
		měření (mOsmol/kg)	odhad (mOsmol/kg)	odchylka (%)	měření (mOsmol/kg)	odhad (mOsmol/kg)	odchylka (%)
octan sodný	0,9404	191,2	188,1	1,6	1885,0	1880,8	0,2
hydrogenuhličitan sodný	0,8280	182,2	165,6	9,1	1508,6	1656,0	9,8
chlorid amonný	0,9342	202,8	186,8	7,9	1880,0	1868,4	0,6
mléčnan sodný	0,8971	187,0	179,4	4,1	1743,4	1794,2	2,9

7. Závěry

- 1) K převodu molality (mol/kg) na molaritu (mol/l) je nutná znalost hustoty roztoku. Vztah mezi molalitou a molaritou lze pro jednotlivé látky popsat rovnicí lineární regrese. Pro studované elektrolyty octan sodný, hydrogenuhličitan sodný, chlorid amonný a mléčnan sodný byly charakterizovány koeficienty korelace v rozmezí 0,9997 - 1,0000.
- 2) Experimentálně zjištěné hodnoty osmolality (mOsmol/kg) umožnily určit aktuální molální osmotický koeficient látek v závislosti na molální koncentraci roztoků. Průměrný molální osmotický koeficient lze použít k odhadu osmolality roztoků. Pro octan sodný a mléčnan sodný lze využít průměrný $\Phi = 0,9404$, respektive $\Phi = 0,8971$, s odchylkou odhadu od měřené hodnoty $< 2\%$ respektive $< 4\%$. Pro silné elektrolyty hydrogenuhličitan sodný a chlorid amonný nelze takový odhad doporučit.
- 3) Využitím tří metod byla odhadnuta teoretická a aktuální osmolarita roztoků. Nejvýraznější odchylku mezi odhadem osmolarity a měřenou osmolalitou vykazovala teoretická osmolarita s převodem podle rovnice 3 s výjimkou octanu sodného, kde odhad osmolarity dle této rovnice vycházel nejpřesněji. Jako nejpřesnější lze doporučit metodu podle USP využívající parciální měrný objem látky, který vyjadřuje změnu objemu roztoku po rozpuštění 1 g látky. Vztah mezi osmolalitou a osmolaritou lze pro jednotlivé látky popsat pomocí rovnice lineární regrese, pro jednotlivé studované látky byly charakterizovány koeficienty korelace v rozmezí 0,9980 - 1,0000.

8. Souhrn

Diplomová práce shrnuje poznatky o formulaci parenterálních přípravků a vyjadřování jejich osmotické koncentrace. Na základě pyknometrického měření hustoty vodných roztoků octanu sodného, hydrogenuhličitanu sodného, chloridu amonného a mléčnanu sodného v odstupňované molalitě 0,1-1,0 mol/kg jsou prezentovány rovnice lineární regrese k převodu molality (mol/kg) na molaritu (mol/l).

Experimentálně zjištěné hodnoty osmolality (mOsmol/kg) roztoků umožnily vyjádření aktuálních molálních osmotických koeficientů studovaných látek. K odhadu osmolality z molality roztoku lze doporučit průměrný molální osmotický koeficient pro octan sodný a mléčnan sodný s odchylkou odhadnuté hodnoty od měřené do 2% respektive 4%.

K odhadu osmolarity (mOsmol/l) lze doporučit metodu využívající měřenou osmolalitu, hustotu roztoku a parciální měrný objem látky (ml/g), který vyjadřuje změnu objemu roztoku při rozpuštění 1 g látky.

9. Summary

This diploma thesis summarizes findings of both formulation of parenteral preparations and expressions of their osmotic concentration. The equations of linear regression for the conversion of molality (mol/kg) to molarity (mol/l) are presented on the basis of pycnometry measurement of density of aqueous solution of sodium acetate, sodium bicarbonate, ammonium chloride, and sodium lactate in molality 0.1 - 1.0 mol/kg.

Experimentally obtained values of solution osmolality (mOsmol/kg) allowed estimation of the actual molal osmotic coefficient of studied electrolytes. The mean molal osmotic coefficient might be recommended for the estimation of osmolality from solution molality in case of aqueous solution of sodium acetate and sodium lactate. The differences between the measured osmolality and the estimated one were 2% and 4%, respectively.

The method using the measured osmolality, the solution density and the partial specific volume of solute (ml/g), which express the change of the solution volume after the addition of 1.0 g of solute, might be recommended to estimate osmolality of the solution (mOsmol/l).

10. Použitá literatura

- ¹ Lund, W. (Ed.): British pharmaceutical codex. 12th Ed., Pharmaceutical Press, 1994, 93-119
- ² Chapman, D. G.: Parenteral products. In: Winfield, A.J., Richards, R. M. (Ed.): Pharmaceutical Practice. 2nd Ed., Churchill Livingstone, Edinburgh, 1998, 236-253
- ³ Allen, L. V., Popovich, N. G., Ansel, H. C.: Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems. 8th ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, 2005, 443-505
- ⁴ Parenteralia. In: Český lékopis, Grada, doplněk 2007, 1516-1520
- ⁵ Meyer, B.K., Ni, A., Hu, B., Shi, L.: Antimicrobial preservative use in parenteral products: past and present. J. Pharm. Sci., 96 (12), 2007, 3155-3167
- ⁶ Shah, J. C.: Tonicity. In: Swarbrick, J.: Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 3rd Edition, Volume 6, Pinehurst, North Carolina, 2007, 3768-3781
- ⁷ Reich, I., Poon, C. Y., Sugita, E. T.: Tonicity, Osmoticity, Osmolality and Osmolarity. In: Gennaro, A. R. (Ed.): Remington: The science and practice of pharmacy, 20th Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, 2000, 246-262
- ⁸ Zadák, Z.: Přístupové cesty pro parenterální výživu. In: Zadák, Z.: Výživa v intenzivní péči, 2. vyd., Grada Publ., Praha, 2008, 239-256
- ⁹ Deardorff, D. L.: Osmotic strenght, osmolality, and osmolarity. Am. J. Hosp. Pharm., 6 (37), 1980, 504-509
- ¹⁰ Osmolality and Osmolarity <785>, US Pharmacopoeia 30, NF 25, The United States Pharmacopoeial Convention, Rockville, 2006, 315-317
- ¹¹ Campbell, I.: Osmolality and partitioning of fluids. In: Campbell, I., Surgery. The medicine Publishing Company, Oxford, 2004, 48c-48e
- ¹² Physicochemical properties of drugs in solution. In: Physicochemical Principles of Pharmacy, 4th Ed., Pharmaceutical press, 2006, 55-92

-
- ¹³ Lund, C. G., Nielsen, P., Pedersen-Bjergaard, K.: The preparation of solutions iso-osmotic with blood, tears and tissue. Danish Pharmacopeia Commission, Einar Munksgaard, Copenhagen, 1947. In: *citace 1*
- ¹⁴ Jumaa, M., Müller, B. W.: In vitro investigation of the effect of various isotonic substances in parenteral emulsions on human erythrocytes. Eur. J. Pharm. Sci., 9 (2), 1999, 207-212
- ¹⁵ Murty, B. S. R., Kapoor, J. N., DeLuca, P. P.: Compliance with USP osmolarity labeling requirements. Am. J. Hosp. Pharm., (33), 1976, 546-551
- ¹⁶ AISLP
- ¹⁷ Vademecum infuzních roztoků a dalších parenterálních přípravků. Ardeapharma a. s. Ševětín, dokumentace výrobce
- ¹⁸ Jabor, A. a kol.: Acidobazické poruchy. In: Jabor, A. a kol.: Vnitřní prostředí. Grada Publ., Praha, 2008, 259-286
- ¹⁹ Zadák, Z.: Zajištění rovnováhy vody a elektrolytů při parenterální výživě u akutních stavů. In: Zadák, Z.: Výživa v intenzivní péči, 2. vyd., Grada Publ., Praha, 2008, 109-140
- ²⁰ Koltík, B., Lank, V., Růžičková, K., Vondra, M., Vošický, Z.: Matematické, fyzikální a chemické tabulky. Fragment, Praha, 2007, 164-165
- ²¹ Huber, H. E., Streng, W. H., Tan, H. G. H.: Osmolality of Parenteral Solutions. J. Pharm. Sci., 68 (8), 1979, 1028-1032
- ²² Křížová, L.: Osmolalita parenterálních přípravků s obsahem elektrolytů. Rigorózní práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta. 2008. 60 S